

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

PCTORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

| | | |
|---|-----------|--|
| (51) Classification internationale des brevets⁵ : A61K 7/42, 7/48, 37/10 C07H 19/10, 19/20, 21/00 | A1 | (11) Numéro de publication internationale: WO 90/00894 (43) Date de publication internationale: 8 février 1990 (08.02.90) |
| (21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR89/00377 (22) Date de dépôt international: 17 juillet 1989 (17.07.89) (30) Données relatives à la priorité: 88/09747 19 juillet 1988 (19.07.88) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): LABORATOIRES SEROBIOLOGIQUES [FR/FR]; 3, rue de Seichamps, F-54420 Pulnoy (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement) : PAULY, Georges [FR/FR]; 8, rue Joffre, F-57170 Château-Salins (FR). PAULY, Marc [FR/FR]; 10, rue Joffre, F-57170 Château-Salins (FR). PAULY, Gilles [FR/FR]; 42, route Nationale, Seichamps, F-54420 Saulxures-les-Nancy (FR). (74) Mandataires: PORTAL, Gérard etc. ; Cabinet Beau de Loménie, 55, rue d'Amsterdam, F-75008 Paris (FR). | | (81) Etats désignés: CH, DE, GB, LU, NL, US. Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> |
| (54) Title: CYTO-PHOTO-PROTECTOR AGENT BASED ON NUCLEIC ACIDS AND/OR THEIR DERIVATIVES (54) Titre: AGENT CYTO-PHOTO-PROTECTEUR A BASE D'ACIDES NUCLEIQUES ET/OU DE LEURS DERIVES (57) Abstract <p>The invention relates to a cyto-photo-protector agent for protecting the skin, specially the Langerhans cells. Said agent is characterized in that it is comprised of at least one compound selected amongst the group of nucleic compounds and derivatives including: A - ribonucleic acids, as well as their derivatives, preferably their salts, with mineral or organic bases, preferably complex salts of basic proteides, basic aminoacids or basic peptides; and B - ribonucleotides as well as their derivatives of the salt type, with mineral or organic bases including complex salts with basic proteides, basic aminoacids or basic peptides; and C - ribonucleosides. It is thus possible to prepare cosmetic and/or dermopharmaceutical compositions for topical utilization and which have a photoprotecting activity on teguments, but more particularly on living cells of the derm and the epiderm, thus providing for a cytoprotection of the skin, particularly epiderm immunocompetent cells; Langerhans cells sensitive to solar radiation and also by contact with certain compounds frequently used as conventional solar filters.</p> (57) Abrégé <p>L'invention concerne un agent cyto-photo-protecteur cutané, spécialement des cellules de Langerhans. Cet agent est caractérisé en ce qu'il comprend au moins un composé choisi parmi le groupe des composés et dérivés nucléiques comprenant: A - les acides ribonucléiques, ainsi que leurs dérivés, de préférence leurs sels, avec des bases minérales ou organiques, de préférence des sels complexes de protéides basiques, des aminoacides basiques ou des peptides basiques; et B - les ribonucléotides ainsi que leurs dérivés type sels, avec des bases minérales ou organiques incluant des sels complexes avec des protéides basiques, des aminoacides basiques ou des peptides basiques; et C - les ribonucléosides. On peut ainsi préparer des compositions cosmétiques et/ou dermo-pharmaceutiques d'usage topique ayant une activité photo-protectrice des téguments, mais plus particulièrement des cellules vivantes du derme et de l'épiderme en aboutissant ainsi à une cyto-protection cutanée, en particulier des cellules immuno-compétentes de l'épiderme: cellules de Langerhans, sensibles au rayonnement solaire, et aussi par contact avec certains composés fréquemment utilisés en tant que filtres solaires classiques.</p> | | |

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

| | | | | | |
|----|-----------------------------------|----|---|----|-----------------------|
| AT | Autriche | ES | Espagne | MG | Madagascar |
| AU | Australie | FI | Finlande | ML | Mali |
| BB | Barbade | FR | France | MR | Mauritanie |
| BE | Belgique | GA | Gabon | MW | Malawi |
| BF | Burkina Faso | GB | Royaume-Uni | NL | Pays-Bas |
| BG | Bulgarie | HU | Hongrie | NO | Norvège |
| BJ | Bénin | IT | Italie | RO | Roumanie |
| BR | Brsil | JP | Japon | SD | Soudan |
| CA | Canada | KP | République populaire démocratique de Corée | SE | Suède |
| CF | République Centrafricaine | KR | République de Corée | SN | Sénégal |
| CG | Congo | LI | Liechtenstein | SU | Union soviétique |
| CH | Suisse | LK | Sri Lanka | TD | Tchad |
| CM | Cameroon | LJ | Luxembourg | TG | Togo |
| DE | Allemagne, République fédérale d' | MC | Monaco | US | Etats-Unis d'Amérique |
| DK | Danemark | | | | |

Agent cyto-photo-protecteur à base d'acides nucléiques et/ou de leurs dérivés.

05

L'invention concerne essentiellement un agent cyto-photo-protecteur cutané, en particulier des cellules de Langerhans, à base de complexes nucléiques : ribonucléoprotidiques, ribonucléotidiques, ribonucléosidiques, composition cosmétique ou dermo-pharmaceutique en contenant pour utilisation par voie topique, ainsi que des nouveaux composés constitués par exemple, par des associations avec des photo-protecteurs de préférence biologiques, particulièrement ceux existant dans l'épiderme ayant une action photo-protectrice directe comme la kératine, les urocanates, certains acides aminés, soit une action indirecte comme des compositions tyrosiniques, tryptophane stimulateurs de biosynthèse de mélanine (laquelle est reconnue comme l'un des meilleurs agents photo-protecteurs naturels contre les effets nocifs du rayonnement solaire ou UV).

On connaît déjà dans l'art antérieur de nombreux agents photo-protecteurs de la peau. Par exemple, le document FR-A-2 026 267 décrit l'emploi d'association avec de l'uracile, de la cytosine, de la guanine et/ou du 5-chloro-uracile comme agents photo-protecteurs de la peau, des tests de contrôle de photo-protection étant donnés par détermination du "facteur moyen de protection" d'après SCHULZE (Parfumerie und Kosmetik 37, 310/365 (1956)). Dans ce dernier document, on décrit également des combinaisons de ces substances, qui sont des bases puriques, pyrimidiques avec des agents photoprotecteurs usuels tels que des cinnamates, en particulier le pméthoxycinnamate d'éthylhexyle.

Cependant, ces bases puriques ou pyrimidiques sont peu ou pas solubles dans l'eau.

On connaît également par le document antérieur de la demanderesse EP-B-10 483 des agents accélérateurs de bronzage aboutissant ainsi à une photo-protection de la peau, à base de tyrosinate d'arginine et prévoyant des combinaisons avec l'acide

urocanique ou des urocanates d'arginine. Les agents accélérateurs de bronzage ont un effet photo-protecteur par stimulation de la formation de mélanine. On décrit également dans FR-A-2 579 461 des amides de l'acide urocanique comme filtre solaire.

05 On connaît également, par le document FR-A-2 511 243, l'emploi d'ADN hautement polymérisé principalement dans des compositions cosmétiques telles que des crèmes, laits ou lotions, pour améliorer l'élasticité ou la régénération cellulaire. Il est évoqué dans ce document une possibilité de protection de la peau vis-à-vis
10 des rayons nocifs du soleil. Cependant, dans le cadre du lait solaire, il est proposé d'ajouter un filtre solaire résistant aux ultraviolets dont il est indiqué qu'il doit être non sensibilisant.

Aucun d'entre eux n'a été décrit par l'auteur.

15 Par ailleurs, divers dérivés nucléiques ont été décrits en tant que tel, dans certains cas avec une application thérapeutique principalement pour lutter contre l'asthénie de l'insuffisante hépatique (voir FR-A-2 329 289 ; FR-A-2 181 220 ; US-A-3 326 892 ; AU-B-461 034 ; FR-A-1 440 795 ; FR-A-2 354 774 ; FR-A-2 113 774 ; BSM-A-3 932 ; BSM-A-5 032 et BSM-A-4811).

20 Tous les agents photo-protecteurs connus ont pour but de protéger la peau contre les dangers de l'exposition solaire abusive ou chronique dont il est bien connu que les effets nocifs sont liés principalement aux rayonnements ultraviolets, type UVB et UVA. On sait que ces effets nocifs se traduisent par des manifestations
25 aiguës allant de l'érythème solaire simple aux nécroses cutanées en passant par les brûlures de différents degrés ; des effets tardifs résultant d'expositions prolongées et répétées aboutissant à un vieillissement cutané précoce ; enfin des effets carcinogènes cutanés à long terme, consécutifs à des expositions UVR chroniques.

30 La photo-protection est donc apparue depuis longtemps comme une nécessité pour se prémunir des effets nocifs du rayonnement solaire.

Ainsi, ont été commercialisés de nombreux produits cosmétiques dits solaires devant apporter une garantie contre les
35 méfaits du soleil, appliqués topiquement et contenant diverses variétés d'agents photo-protecteurs ou antisolaires dont des

exemples représentatifs sont donnés par les documents ci-dessus mentionnés.

05 Pour les consommateurs, l'efficacité photo-protectrice de ces produits "solaires" est spécifiée sur les produits par l'indication d'indice de photo-protection ou S.P.F. (Sun Protecting Factor) déterminés par des photobiologistes sur des séries de sujets volontaires de phototypes courants, selon des méthodes officialisées.

10 Ces méthodes reposent en particulier sur la détermination visuelle de la MED (Minimum Erythemat Dosis) correspondant à la plus petite dose d'irradiation UVR capable de produire, à l'aide d'un simulateur solaire, un érythème visible, à bords nets, 24 h après l'irradiation.

15 Mais il est apparu par des contrôles histologiques que, bien avant le début de l'apparition d'érythèmes liminaires, des dégâts cellulaires se produisaient déjà à des doses UVR bien inférieures à la MED. La valeur SPF n'est donc pas adaptée à la cyto-photo-protection. Ainsi, il a pu être constaté l'apparition dans l'épiderme de cellules "coup de soleil (Sunburn Cells)" tout à fait caractéristiques correspondant à des kératinocytes épidermiques lésés par les UVR à des doses inférieures à la MED, donc sans qu'il ait été constaté l'apparition d'érythèmes. Ainsi, si des dégâts cellulaires dans la peau peuvent apparaître à des doses UVR inférieures à celles produisant un érythème visible, il y a un intérêt manifeste à ne pas se contenter d'assurer une photo-protection permettant d'éviter l'érythème solaire, mais d'assurer en outre une véritable photo-protection des cellules vivantes de l'épiderme et du derme, ce que n'apportent pas ou mal des filtres solaires alignés sur une simple MED de valeur moyenne, d'ailleurs inconnue généralement des utilisateurs et de plus évolutive.

30 Parmi ces cellules vivantes pouvant subir des dommages par UVR, on peut citer principalement :

* Pour l'épiderme :

35 - les kératinocytes épidermiques, essentiels pour la protection de la peau, et tout particulièrement,

- les cellules de Langerhans, élément fondamental du système de défense immunitaire cutané. Elles jouent un rôle fondamental dans la captation et le traitement des antigènes :

- 05 . antigènes exogènes : par exemple virus, substances toxiques, substances sensibilisantes,
- . antigènes endogènes : cellules épidermiques anormales ou transformées, voire malignes.

10 Selon B. GILCHREST*, si le nombre de cellules de Langerhans et leur fonctionnalité (explorée par le test du DNCB) diminue avec l'âge en zones couvertes (vieillissement physiologique), cette diminution est encore plus importante avec l'âge en zones exposées par rapport aux zones couvertes (vieillissement actinique).

15 Cette altération avec l'âge du nombre et de la fonction des cellules de Langerhans, principalement liée aux expositions solaires répétées, entraîne une diminution du système de défense immunitaire cutané et favorise notamment la carcino et photo-carcinogénèse cutanée.

20 - autres cellules épidermiques concernées : les cellules de MERCKEL et les mélanocytes dont le nombre et la vitalité diminuent avec l'âge, ce qui diminue d'autant la capacité d'auto-photo-protection cutanée par pigments mélaniques.

* Pour le derme :

25 - les fibroblastes-fibrocytes, responsables de la biosynthèse des éléments constitutifs du derme.

30 Par ailleurs, les présents inventeurs ont tenu à vérifier si les préparations solaires et éventuellement les filtres solaires classiques, tels que les cinnamates et esters de PABA, ne seraient pas susceptibles d'avoir un effet cytotoxique ou photo-cyto-toxique sur les cellules vivantes de l'épiderme et/ou du derme dont ils doivent assurer la photo-protection, et particulièrement sur les

35 * Barbara A. GILCHREST - SKIN * AGING PROCESSES - CRC Press - 1984 - pages 73, 87, 102, 103.

cellules de Langerhans qui constituent l'élément essentiel du capital immunitaire cutané.

Or, les présents inventeurs ont pu découvrir de manière inattendue que les filtres testés, mis en contact avec des
05 cellules épidermiques et dermiques vivantes, en conditions in vivo et in vitro étaient non seulement mal tolérés, mais présentaient une cytotoxicité non négligeable particulièrement en contrôle in vitro. En ce qui concerne les cellules de Langerhans, les filtres couramment utilisés se comportent comme des haptènes
10 et, de ce fait, bloquent ou altèrent la fonction essentielle de réponse immunologique des cellules de Langerhans. Ce processus se manifeste entre autres par le blocage du site HLADR qui joue un rôle capital dans la reconnaissance, et la présentation des anti-gènes.

15 Or, la cyto-photo-protection devient aberrante si l'agent photo-protecteur est lui-même cytotoxique ou perturbateur de fonction.

Le constat d'une cytotoxicité de filtres solaires connus testés au contact des cellules vivantes précitées laisse supposer
20 que le risque existe non seulement en culture de cellules, mais in vivo au cas où ces filtres pourraient traverser la peau par simple usage topique.

Or, les travaux récents, effectués sur divers esters cinnamiques, qui sont des agents photo-protecteurs courants,
25 démontrent que, lorsqu'ils sont introduits dans des excipients cosmétiques solaires, ces filtres pénétraient relativement rapidement dans la peau, mais en plus étaient présents dans le sang circulant (voir la thèse de pharmacie de Monsieur CLAUS Denis présentée à l'Université de Strasbourg FRANCE (1982), ayant pour
30 titre "Etude de la stabilité photochimique et de la pénétration cutanée d'esters de l'acide para-méthoxycinnamique").

De même, d'autres publications font état de sensibilisations et de réactions allergiques (entre autres le livre de J. Foussereau ayant pour titre "Les eczémas allergiques, au
35 chapitre : Les Anti-solaires" paru aux éditions MASSON en 1987, en particulier pages 312-319, et l'article de MAYBACH paru dans

05 Contact Dermatitis 1978, pages 1665-1666 ayant pour titre
"Allergic Contact Photo-dermatitis to PABA ; l'article de
JEANMOUGIN paru dans Photo-dermatoses, page 180 concernant les
allergies et photo-allergies de Contact ; l'article de DAVIES paru
10 dans Contact dermatitis 1982, 8, pages 190-192 ayant pour titre
"Acute Photo-sensitivity from sunscreen 2, EE PMC ; l'article de
Horio paru dans Dermatologica 1978, 156, pages 124-128 ayant pour
titre "Photo Contact Dermatitis from PABA", l'article de THOMSON et
MAIBACH paru dans Arch. Dermatology, 1977, 113, pages 1252-1253,
15 également.

La présente invention a donc pour but de résoudre le
nouveau problème technique consistant en la fourniture de nouveaux
agents cyto-photo-protecteurs spécifiques pouvant être utilisés
topiquement pendant de longues périodes, cyto-compatibles, et
20 bien tolérés en usage topique courant même prolongé, comme pour
les produits dénommés "anti-âge" d'utilisation journalière, de
préférence sans emploi de filtres solaires classiques.

La présente invention a encore pour but de résoudre le
nouveau problème technique consistant en la fourniture de nouveaux
25 agents photo-protecteurs ayant une activité spécifique de photo-
protection cellulaire dite cyto-photo-protection, notamment pour
les cellules essentielles de l'épiderme et du derme, telles que
les kératinocytes, les fibroblastes, et tout particulièrement les
cellules de Langerhans.

25 La présente invention a encore pour but de résoudre le
nouveau problème technique consistant en la fourniture de nouveaux
agents cyto-photo-protecteurs ne se comportant pas ou essentielle-
ment pas comme des haptènes, donc ne bloquant pas la fonction
essentielle de réponse immunologique des cellules de Langerhans.

30 La présente invention a également pour but de résoudre ces
nouveaux problèmes techniques énoncés ci-dessus en fournissant de
tels nouveaux agents cyto-photo-protecteurs cutanés, qui soient en
outre compatibles et stables dans la plupart des préparations
cosmétiques ou dermatologiques, tout en étant de préférence hydro-
35 solubles, permettant ainsi une meilleure pénétration dans les

couches épidermiques, ce qui permet de différencier les agents bio-cyto-photo-protecteurs des filtres solaires classiques.

Ces nouveaux problèmes techniques sont résolus pour la première fois par la présente invention, d'une manière simultanée, utilisable à l'échelle industrielle.

Ainsi, la présente invention fournit, selon un premier aspect, un agent cyto-photo-protecteur cutané, d'origine biologique ou biotechnologique, notamment ayant une activité photo-protectrice des cellules fonctionnelles de la peau, en particulier des cellules de Langerhans, de préférence ne contenant pas de filtre solaire cyto-toxique, synthétique, en particulier du type cinnamate ou PABA ou leurs dérivés, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un composé choisi parmi le groupe des composés et dérivés nucléiques comprenant :

A - Les acides ribonucléiques, ainsi que leurs dérivés, en particulier leurs sels, avec des bases minérales ou organiques, et de préférence des sels complexes de protéides basiques, des aminoacides basiques ou des peptides basiques ;

B - Les ribonucléotides, ainsi que leurs dérivés type sels, avec des bases minérales ou de préférence organiques incluant des sels complexes avec des protéides basiques, des aminoacides basiques ou des peptides basiques ; et

C - Des ribonucléosides.

Selon un mode de réalisation particulier, les acides ribonucléiques sont sous forme de sels avec des bases minérales, avantageusement choisies parmi NaOH, KOH, NH_4OH , ou des bases organiques, en particulier les éthanolamines.

Selon un autre mode de réalisation particulier, les acides ribonucléiques sont sous forme de leurs sels avec des protéides basiques, tels que :

- les histones ou microprotéines de poids moléculaire compris entre 11 000 et 24 000 environ, fortement basiques en raison de leur richesse en acides aminés basiques type Arginine et Lysine, qui constituent jusqu'à 25 % des résidus aminés de ces molécules. Des histones préférées sont celles du type H1, H2A, H3, H4 qui sont par exemple rapportées page 818 du livre de A. LEHNINGER. De

telles histones se rencontrent en particulier dans le sperme de certains poissons, les leucocytes, le thymus et plus généralement dans tous les noyaux cellulaires ;

- les globines dont les poids moléculaires sont compris entre environ 15 000 et environ 70 000, et qui sont riches en amino-acides basiques constitutifs du type Histidine (5 à 9 %) et lysine.

Selon un autre mode de réalisation particulier, les acides ribonucléiques sont sous forme de leurs sels complexes avec des aminoacides basiques, de préférence choisis parmi la L-histidine, la L-arginine, la L-lysine, la L-hydroxylysine, la L-ornithine.

Selon une autre variante, les acides ribonucléiques sont sous forme de leurs sels avec des peptides basiques.

En outre, il est à observer que les sels complexes des acides ribonucléiques précités présentent l'avantage d'être hydrosolubles, de présenter une bonne diffusibilité dans l'épiderme et qu'ils peuvent être utilisés à des concentrations permettant d'obtenir de préférence des pH bio-compatibles compris entre 5,8 et 8, le milieu liquidien interstitiel étant à un pH voisin de 7,4.

Selon un autre mode de réalisation particulier de l'invention, les ribonucléotides précités sont choisis parmi le groupe des mono-ribonucléotides courants, c'est-à-dire les constituants normaux des acides nucléiques correspondants qui présentent un fort pouvoir UV absorbant dans les longueurs d'onde de 250 à 280 nm.

Les ribonucléotides préférés sont les suivants :

| | | | |
|----|-----|-----|-----|
| | AMP | ADP | ATP |
| 30 | GMP | GDP | GTP |
| | CMP | CDP | CTP |
| 35 | UMP | UDP | UTP |

| | | |
|-----|-----|-----|
| IMP | IDP | ITP |
|-----|-----|-----|

| | | |
|-----|-----|-----|
| XMP | NDP | ATP |
|-----|-----|-----|

05

De préférence, on utilise les ribonucléotides précités sous forme de leurs sels avec des bases, ce qui permet d'obtenir des pH de l'ordre de 5,8 à 8 qui sont biocompatibles.

10 Selon un mode de réalisation particulier, les ribonucléotides précités sont sous forme de leurs sels avec des bases minérales, de préférence choisies parmi NaOH, KOH, NH₄OH, ou avec des bases organiques, en particulier les éthanolamines. Un exemple de sel particulièrement préféré est le sel de sodium de L'ATP pour son effet photo-cyto-protecteur spécifique des cellules de

15 Langerhans.

Selon un autre mode de réalisation particulier, les ribonucléotides précités sont sous forme de leurs sels avec des protéides basiques, tels que :

- les histones ou microprotéines de poids moléculaire compris entre
- 20 11 000 et 24 000 environ. En particulier, il s'agit des histones type H1, H2A, H3B, H3, H4 définies plus avant.
- les globines ou copules protéiques des hémoglobines et des myoglobines dont les poids moléculaires sont compris entre environ
- 25 15 000 et environ 70 000.

25 Selon un autre mode de réalisation particulier de l'invention, les ribonucléotides précités sont sous forme de leurs sels avec les aminoacides basiques, en particulier un ou plusieurs aminoacides basiques choisis parmi le groupe consistant de la L-histidine, la L-arginine, la L-ornithine, la L-hydroxylysine, la

30 L-lysine.

Selon une autre variante, les ribonucléotides sont sous forme de leurs sels avec des peptides basiques.

Selon un autre mode de réalisation particulier, les ribonucléosides précités sont choisis parmi le groupe consistant des

35 monoribonucléosides courants, qui sont les constituants normaux des acides nucléiques correspondants qui présentent un fort pouvoir UV

absorbant dans les longueurs d'onde de 250 à 280 nm, de préférence :

RIBONUCLEOSIDES

05

- . Adénosine
- . Cytidine
- . Guanosine
- . Inosine
- . Uridine
- . Xanthosine

10

15

L'avantage des ribonucléosides est qu'ils présentent la plupart du temps directement des pH compatibles avec la physiologie cellulaire cutanée, donc ne nécessitant pas a priori la formation de sels, complexes ou combinaisons biochimiques avec des protéides basiques, peptides basiques et aminoacides basiques.

20

Ces nucléosides peuvent, selon certains modes de réalisation particuliers, être associés ou combinés à un ou plusieurs des nucléoprotides ou ribonucléotides précités ainsi que leurs sels, en des proportions calculées pour l'obtention de pH biocompatibles compris entre 5,8 et 8.

25

On comprend que, selon l'invention, il est préféré d'utiliser des agents cyto-photo-protecteurs hydrosolubles présentant une bonne diffusibilité dans l'épiderme, à des concentrations permettant d'obtenir des pH biocompatibles ou compris entre 5,8 et 8.

30

Il est à noter que la nature de l'acide nucléique ARN ou des poly-ribo-nucléotides utilisés pour la formation des dérivés selon l'invention peut être quelconque. En effet, il peut s'agir de poly-ribo-nucléotides de départ dont la structure secondaire ou tertiaire est conservée, mais aussi des acides ribonucléiques résultant de la dénaturation plus ou moins partielle des poly-ribo-nucléotides, car cette dénaturation plus ou moins partielle n'est pas gênante. On peut ainsi utiliser des acides dont la structure primaire peut être conservée au maximum, ou le produit de la dénaturation-dégradation, plus ou moins ménagée de ces

35

structures primaires, résultant en fragments de structure primaire, allant des poly- aux oligo- et aux mono-nucléotides et/ou aux poly-, oligo- ou mono-ribonucléosides correspondants.

05 Cette dénaturation plus ou moins partielle n'est pas gênante pour la formation des dérivés selon l'invention utilisés comme agents cyto-photo-protecteurs, car cette utilisation n'a surtout pas pour but de traduire le message génétique original de l'ARN utilisé pour la préparation des dérivés selon l'invention.

10 Il résulte de ce qui précède que le but de l'utilisation topique des dérivés selon l'invention est d'exercer des effets cyto-photo-protecteurs en déposant les composés selon l'invention sur ou dans les couches superficielles cutanées.

15 Ils jouent ainsi le rôle de chromophores ou de cibles passives les plus avancées qui absorberont ou piégeront l'énergie du rayonnement, compétitivement et préférentiellement, empêchant les radiations d'atteindre les cibles potentielles qu'il faut réellement protéger des dommages des irradiations, constituées par les organites cellulaires actifs et macro-molécules constitutives.

20 En outre, la présence des composés selon l'invention en quantité importante, comprenant des poly-, oligo- et mono-ribonucléotides, sels, complexes, combinaisons et dérivés de poly-, d'oligo- et de mono-ribonucléosides, est parfaitement tolérée par les cellules puisqu'on en trouve naturellement un pourcentage élevé
25 situé entre 5 et 15 % par rapport au poids desséché des cellules vivantes, et que l'on en trouve normalement dans les couches épidermiques cornées.

30 Les composés selon l'invention sont donc des substances biologiques homologues ou analogues aux substances naturellement présentes dans l'épiderme.

Il est préféré d'utiliser les dérivés de l'acide ribonucléique ou des constituants d'ARN par rapport aux dérivés de l'ADN en raison du fait que :

35 - les ARN et constituants dérivés sont naturellement présents dans les cellules eucaryotes à des concentrations habituellement de 2

- à 8 fois plus fortes que les dérivés d'ADN et se rapprochent ainsi davantage du milieu physiologique cellulaire et tissulaire,
- les ARN et ribonucléodérivés apparaissent comme étant moins sensibles aux irradiations UVB,
- 05 - les ARN sont plus labiles à la dépolymérisation et hydrolyse partielle en nucléotides de leur molécule que les ADN, ce qui est favorable pour la cyto-photo-protection de la peau,
- les ARN sont aussi indispensables au fonctionnement normal des cellules cutanées que le sont les ADN et les protéines de ces
- 10 mêmes cellules.

Selon un autre mode de réalisation particulier de l'invention, les agents cyto-photo-protecteurs de la peau selon l'invention sont caractérisés en ce qu'ils comprennent en outre des dérivés d'acide urocanique ou urocanoprotides, car ces dérivés

15 présentent un effet de synergie avec les composés précédents ribonucléoprotides, ribonucléotides et ribonucléosides.

Ces dérivés d'acide urocanique ou urocanoprotides sont des sels simples ou complexes de l'acide urocanique ou des dérivés d'acide urocanique avec certains protéides, peptides, acides

20 aminés.

Ces dérivés d'acide urocanique ou urocanoprotides sous forme de sels complexes sont obtenus de préférence par une combinaison de l'acide urocanique avec :

- a) des protéides basiques, avantageusement des histones ou des
- 25 globines, en particulier, telles que précédemment définies ;
- b) des ribonucléotides tels que AMP, ADP, ATP photo-absorbants ;
 - c) des peptides basiques,
 - d) des aminoacides basiques, de préférence L-histidine, L-arginine, L-lysine, L-hydroxylysine, L-ornithine,
- 30 pris seuls ou en combinaisons.

On comprendra que le but de ces combinaisons biochimiques est de réaliser des sels complexes biologiques hydrosolubles contrairement à l'acide urocanique qui l'est peu ou insuffisamment et plus cyto-compatible que les urocanates de Na, K.

35 Ces dérivés urocaniques développent un effet très fortement absorbant des UVR, notamment dans les bandes 265, 290 à

320 nm, ces composés étant d'autant plus UV absorbants qu'ils sont associés à des ribo-nucléotides, protéides, peptides, aminoacides eux-mêmes photo-absorbants couvrant une bande d'absorption s'étendant de 265 à 320 nm.

05 Ils sont intéressants, du fait qu'ils sont solubles, nettement substantifs et que leurs solutions peuvent être ajustées à des pH physiologiques de 6,0 à 8,0, suivant les proportions de chacun des constituants.

10 Un autre effet particulièrement avantageux, inattendu des agents cyto-photo-protecteurs de l'invention réside dans le fait que la combinaison des dérivés de l'acide urocanique avec les agents cyto-photo-protecteurs de l'invention réalise un processus naturel de photo-défense cutanée. On peut observer que la proportion des sels et complexes urocaniques augmente de manière
15 considérable, jusqu'à 10 fois, dans l'épiderme et particulièrement dans la partie réservoir de la couche cornée après les irradiations solaires et suite aux stimuli thermiques des glandes sudoripares par les rayonnements infrarouges solaires.

Selon l'invention, on donne la préférence dans les dérivés
20 urocaniques aux complexes urocanoprotidiques, à savoir les urocanohistones, urocano-peptides, urocano-aminoacides basiques et urocano-nucléotidiques plus cytophiles que les dérivés ou sels minéraux alcalins ou alcalino-terreux.

Selon un autre mode de réalisation particulier de l'invention, les agents cyto-protecteurs de la peau selon l'invention
25 comprennent en outre des aminoacides et des peptides ou protéines.

Avantageusement, ces aminoacides et ces peptides et protéines sont choisis parmi :

1) un ou plusieurs des 20 aminoacides courants habituels
30 des protéines, dont la liste suit :

- Aminoacides engagés dans les complexes, combinaisons précitées L-histidine, L-arginine, L-lysine, L-citrulline, L-ornithine, L-hydroxylysine.
- Aminoacides aromatiques L-tyrosine, L-phénylalanine, L-tryptophane. Très avantageux, car disposant eux-mêmes d'un effet UVR
35 absorbant important dans la bande 280 nm.

- . Aminoacides dicarboxyliques : acide L-glutamique, acide L-aspartique.
- . Acides aminés cycliques : L-proline* (L-hydroxyproline).
- . Acides aminés monocarboxyliques : glycine, alanine, L-valine*,
05 L-leucine*, L-isoleucine.
- . Acides aminés "alcool" : L-sérine*, L-thréonine*.
- . Acides aminés "amidés" : L-glutamine*, L-asparagine.
- . Acides aminés soufrés et oligo-peptides soufrés : L-cystéine*, L-méthionine*, cystine*,
10 *Aminoacides épidermiques abondants dans la kératine dont on connaît le pouvoir photo-protecteur.

2) Un ou plusieurs des peptides et protéines habituels des cellules et/ou peptides résultant de l'hydrolyse acide, basique ou enzymatique, de polypeptides et/ou protéines scléoroprotéines et
15 protéines solubles.

Par exemple : GLUTATHION : tripeptide parfaitement hydro-soluble et habituellement présent dans tous les tissus vivants à concentration élevée (5 mM) et qui joue un rôle important dans le transport intra-cellulaire des acides aminés et dans les réactions
20 biologiques d'oxydo-réduction.

Les peptides hormonaux sont exclus de la présente invention. Par contre sont avantageusement complémentaires, les

. Scléoroprotéines et leurs hydrolysats partiels.

Par exemple :

- 25 - fibroïne de la soie concentrations de 1 à 10 %
- collagène concentrations de 1 à 10 %
- élastine concentrations de 1 à 10 %
- kératines hydrophiles

. Protéines solubles et leurs hydrolysats partiels :

30 Par exemple : (en concentrations de 0,10 à 10 %)

- histones
- globines (hémoglobines et myoglobines)
- protéines plasmatiques (par exemple sérum-albumine, sérum-globulines)

- 35 - protéines plasmatiques partiellement hydrolysées (voie enzymatique), soit de plasma sanguin riche en protéines (environ

8 %) et utilisable comme solvant biologique synergique de photo-protection et véhicule transporteur biologique, grâce à la pression osmotique qu'il développe, particulièrement actif et à son pH d'origine 7,4 pour dissoudre et diffuser les ribo-nucléo-dérivés précités.

05

L'intérêt de ces peptides et protéines est qu'ils ont eux-mêmes un pouvoir photo-absorbant dans le spectre ultraviolet :

- dans la zone 250 à 300 nm (absorption résultant principalement de la présence des 3 aminoacides aromatiques : tyrosine-tryptophane-phénylalanine,
- 10 - dans la zone 210 à 250 nm (absorption due notamment aux amino-acides : cystéine, méthionine, histidine),
- dans la zone inférieure à 210 nm (absorption due aux liaisons peptidiques),

15 et qu'ils peuvent être utilisés en synergie avec tous les nucléo-protides précités et tous les urocanoprotides précités renforçant le pouvoir cyto-photo-protecteur des précédents.

La présente invention couvre, selon un deuxième aspect, les compositions cosmétiques ou dermo-pharmaceutiques à activité cyto-photo-protectrice de la peau, notamment à activité photo-protectrice cellulaire et antiviellissement précoce cutané, en particulier protectrice des cellules de Langerhans, caractérisées en ce qu'elles comprennent au moins un agent cyto-photo-protecteur tel que précédemment défini.

25 Dans ces compositions cosmétiques ou dermo-pharmaceutiques selon l'invention, la concentration totale en agents photo-protecteurs selon l'invention est habituellement similaire aux concentrations en agents photo-protecteurs antérieurement connus utilisés pour la photo-protection de la peau. Cette concentration en principe(s) actif(s) selon l'invention sera avantageusement comprise entre 0,01 % et 10 % en poids, de préférence 0,1 à 3 %, par rapport au poids total de la composition cosmétique ou dermo-pharmaceutique.

30

On pourra utiliser tout type d'excipient habituel de telles compositions cosmétiques ou dermo-pharmaceutiques pour utilisation par voie topique.

35

La présente invention concerne encore, selon un troisième aspect, de nouveaux composés, caractérisés en ce qu'il s'agit des composés choisis parmi le groupe consistant de :

05 A - Les sels simples ou complexes des acides ribonucléiques précédemment énoncés avec des bases organiques, choisies parmi les groupes consistants des protéides basiques tels qu'histone, globine, des peptides basiques, ou des peptides tels que glutathion.

10 B - Les sels simples ou complexes des ribonucléotides précédemment décrits, avec les bases organiques choisies parmi les groupes consistants des protéides basiques et des peptides basiques précités.

Selon une variante, les ribonucléotides sont choisis parmi :

15

| | | |
|-----|-----|-----|
| AMP | ADP | ATP |
|-----|-----|-----|

| | | |
|-----|-----|-----|
| GMP | GDP | GTP |
|-----|-----|-----|

20

| | | |
|-----|-----|-----|
| CMP | CDP | CTP |
|-----|-----|-----|

| | | |
|-----|-----|-----|
| UMP | UDP | UTP |
|-----|-----|-----|

25

| | | |
|-----|-----|-----|
| IMP | IDP | ITP |
|-----|-----|-----|

| | | |
|-----|-----|-----|
| XMP | XDP | XTP |
|-----|-----|-----|

Enfin, selon un quatrième aspect, la présente invention concerne encore un procédé de préparation d'un agent cyto-photo-protecteur de la peau, en particulier des cellules de Langerhans, caractérisé en ce qu'on utilise, à titre d'agent cyto-photo-protecteur, au moins un composé choisi parmi le groupe consistant des composés et dérivés nucléoprotidiques et ribonucléosidiques précédemment définis. Les modes de réalisation particuliers de préparation de ces agents cyto-photo-protecteur de la peau résultent également de la description précédente.

Selon un mode de réalisation particulier du procédé de préparation selon l'invention, on prépare les sels des acides ribonucléiques avec des bases minérales ou organiques, ou mieux les sels complexes avec des protéides basiques, des aminoacides ou des peptides basiques tels que précédemment définis, selon une réaction classique acide-base complète, ou partielle, dans le cas de sels complexes.

Selon un autre mode de réalisation du procédé selon l'invention, on prépare les sels des ribonucléotides avec des bases minérales ou organiques incluant des sels complexes avec des protéides basiques, des aminoacides basiques ou des peptides basiques, tels que précédemment définis, également selon une réaction acide-base classique.

La présente invention concerne aussi un procédé de préparation de compositions cosmétiques et/ou dermo-pharmaceutiques, caractérisé en ce qu'on incorpore au moins un agent cyto-photo-protecteur de la peau tel que précédemment défini dans un excipient, véhicule ou support cosmétologiquement et/ou pharmaceutiquement compatible.

D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront clairement à la lumière de la description explicative qui va suivre, faite en référence à de multiples exemples de l'invention, donnés simplement à titre d'illustration et qui ne sauraient en aucune façon limiter la portée de l'invention. Dans la présente description, notamment les exemples, tous les pourcentages sont donnés en poids, sauf indication contraire.

EXEMPLE 1

Préparation d'un ribonucléate de base minérale.

On prépare par exemple un ribonucléate de potassium de la manière suivante :

on utilise 5,7 ml de KOH 0,5 N pour dissoudre 1 g de ARN préalablement dispersé dans 2 g d'eau distillée.

On obtient ainsi une solution à pH : 6,85.

Cet ajout d'acide ribonucléique se fait sous agitation vigoureuse pendant quelques minutes.

On sépare le ribonucléate de potassium ainsi préparé de la manière suivante :

pour obtenir le ribonucléate de potassium sous forme de poudre blanc jaune pâle, il suffit de lyophiliser rapidement cette solution. On obtient les caractéristiques physicochimiques suivantes :

- spectre ultraviolet (eau distillée) = maximum 260 nm,
- pH (solution aqueuse) préparée comme ci-avant = 6,85.

On prépare de la même manière les ribonucléates de sodium ou d'ammonium à partir des bases minérales correspondantes NaOH, NH_4OH .

EXEMPLE 2

Ribonucléate de protéide

On prépare le ribonucléate d'histone en utilisant par exemple de l'ARN (qualité CODEX) disponible dans le commerce.

On prépare une solution aqueuse d'histone (type IV très riche en Arginine).

A cette solution aqueuse, on ajoute sous agitation l'ARN par petites quantités, puis on continue à agiter jusqu'à dissolution complète et obtention d'un pH de 6,8.

La séparation du ribonucléate d'histone obtenu se fait : par lyophilisation, soit par précipitation par l'éthanol à 96°. Centrifugation - lavage à l'éthanol anhydre - séchage sous vide.

Spectre ultraviolet longueur d'onde : 258 - 262 nm.

EXEMPLE 3

Ribonucléate d'acide aminé basique

On prépare les ribonucléates d'arginine, d'histidine et de lysine

3 - A - Ribonucléate d'arginine

- Dans un erlenmeyer, 0,665 g de L-arginine sont dissous par agitation dans 100 ml d'eau distillée.
- 1,335 g d'ARN CODEX est ajouté progressivement, par petites fractions, sous agitation, à la température du laboratoire.

- Poursuivre l'agitation jusqu'à dissolution complète (1 h environ).
 - Le liquide obtenu est filtré et déshydraté par exemple par lyophilisation : obtention d'une poudre blanche.
- 05 (rendement : environ 95 %).
- . Spectre ultraviolet (eau distillée) : maximum 258 nm
 - . pH (eau distillée) : 6,3.
- 3 - B - Ribonucléate d'histidine
- Dans un erlenmeyer, 0,947 g de L-histidine sont dissous par agitation dans 100 ml d'eau distillée.
- 10
- 1,053 g d'ARN CODEX est ajouté progressivement, par petites fractions, sous agitation, à la température du laboratoire.
 - Poursuivre l'agitation jusqu'à dissolution complète (12 h environ).
- 15
- Le liquide obtenu est filtré et déshydraté par exemple par lyophilisation : obtention d'une poudre blanche.
- (Rendement : environ 95 %).
- . Spectre ultraviolet (eau distillée) : maximum 258 nm
 - . pH (eau distillée) : 6,4
- 20 3 - C - Ribonucléate de lysine
- Dans un erlenmeyer, 0,619 g de L-lysine sont dissous par agitation dans 100 ml d'eau distillée.
 - 1,481 g d'ARN CODEX est ajouté progressivement, par petites fractions, sous agitation, à la température du laboratoire.
- 25
- Poursuivre l'agitation jusqu'à dissolution complète (1 h environ).
 - Le liquide obtenu est filtré et déshydraté, par exemple par lyophilisation : obtention d'une poudre blanche.
- (Rendement : environ 95 %).
- 30
- . Spectre ultraviolet (eau distillée) : maximum 258 nm
 - . pH (eau distillée) : 6,2

EXEMPLE 4

Ribonucléotide de base minérale

- 35 En procédant de manière générale comme décrit à l'exemple 1, on prépare les ribonucléotides de base minérale suivants :

- 4 - A . Cytidine monophosphate de sodium
- 4 - B . Uridine monophosphate de sodium
- 4 - C . Inosine monophosphate de sodium
- 4 - D . Adénosine diphosphate de sodium
- 05 4 - E . Adénosine triphosphate de sodium
- 4 - F . Guanosine monophosphate de sodium
- 4 - G . Adénosine monophosphate de sodium

EXEMPLE 5

10 Ribonucléotide de protéide

On prépare les ribonucléotides de protéide suivants, selon la procédure suivante :

- Cytidine monophosphate d'histone.

15 La préparation a lieu comme suit, la cytidine monophosphate étant très soluble dans l'eau, ainsi que l'histone, il suffit de préparer des solutions respectives de 1 % et de les mélanger jusqu'à obtention d'un pH compris entre 6 et 7, puis de lyophiliser la préparation obtenue.

Absorption UV moyenne = 270 nm.

20 EXEMPLE 6

Ribonucléotide de peptide

On prépare les ribonucléotides de peptide suivants :

- La cytidine monophosphate de protamine selon le même procédé qu'à l'exemple 5.

25

EXEMPLE 7

Ribonucléotide d'acide aminé

On prépare les ribonucléotides d'acides aminés basiques suivants :

30 7 - A - Cytidine monophosphate d'arginine

- Dans un erlenmeyer, 0,857 g de L-arginine est dissous par agitation dans 100 ml d'eau distillée.
- 1,143 g de cytidine monophosphate est ajouté progressivement, par petites fractions, sous agitations, à la température du laboratoire.
- 35 - Poursuivre l'agitation jusqu'à dissolution complète.

- Le soluté obtenu est filtré et déshydraté par exemple par lyophilisation.
 - Obtention d'une poudre beige (Rendement : environ 95 %)
 - . Spectre ultraviolet (eau distillée) : maximum 272 nm
 - . pH (eau distillée) : 6,2.
- 05
- 7 - B - Cytidine monophosphate d'histidine
- Dans un erlenmeyer, 1,07 g de L-histidine est dissous par agitation dans 100 ml d'eau distillée.
 - 0,93 g de cytidine monophosphate est ajouté progressivement par petites fractions, sous agitation, à la température du laboratoire.
 - Poursuivre l'agitation jusqu'à dissolution complète.
 - Le soluté obtenu est filtré et déshydraté, par exemple par lyophilisation.
- 10
- 15
- Obtention d'une poudre beige (Rendement : environ 95 %).
 - . Spectre ultraviolet (eau distillée) : maximum 272 nm
 - . pH (eau distillée) : 6,2.
- 20
- 7 - C - Adénosine triphosphate d'arginine
- Dans un erlenmeyer, 0,966 g de L-arginine sont dissous par agitation dans 100 ml d'eau distillée.
 - 2,034 g d'adénosine triphosphate de sodium sont ajoutés progressivement par petites fractions, sous agitation, à la température du laboratoire.
 - Poursuivre l'agitation jusqu'à dissolution complète.
- 25
- Le soluté obtenu est filtré et déshydraté, par exemple par lyophilisation.
 - Obtention d'une poudre beige (Rendement : environ 95 %).
 - . Spectre ultraviolet (eau distillée) : maximum 260 nm
 - . pH (eau distillée) : 6,7.
- 30
- 7 - D - Adénosine triphosphate d'histidine
- Dans un erlenmeyer, 1 g de L-histidine est dissous par agitation dans 100 ml d'eau distillée.
 - 1 g d'adénosine triphosphate de sodium est ajouté progressivement, par petites fractions, sous agitation, à la température du laboratoire.
- 35

- Poursuivre l'agitation jusqu'à dissolution complète (1 h environ).
 - Le soluté obtenu est filtré et déshydraté par exemple par lyophilisation.
- 05 - Obtention d'une poudre beige (Rendement : environ 95 %).
- . Spectre ultraviolet (eau distillée) : maximum 259 nm
 - . pH (eau distillée) : 6,6.

EXEMPLE 8

10 Ribonucléosides

Les ribonucléosides suivants sont disponibles dans le commerce :

- 8 - A . Adénosine
- 8 - B . Cytidine
- 15 8 - C . Inosine
- 8 - D . Uridine
- 8 - E . Uridine/cytidine (50/50)

EXEMPLE 9

20 Urocanate de protéide

On prépare l'urocanate d'histone en opérant de manière similaire à la préparation de l'urocanate de protamine énoncée à l'exemple 10, mais en opérant à une température < 50°C.

25

EXEMPLE 10

Urocanate de peptide

On prépare l'urocanate de protamine de la manière suivante :

- Dans un erlenmeyer, 1,40 g de protamine est dissous par agitation dans 100 ml d'eau distillée.
- 30 - 1,40 g d'acide urocanique est ajouté progressivement.
- Poursuivre l'agitation à 70°C, jusqu'à dissolution complète.
- Filtrer et déshydrater, par exemple par lyophilisation.
- Obtention d'une poudre beige (Rendement : environ 90 %).
- 35 . Spectre ultraviolet (eau distillée) : maximum 269 nm.

EXEMPLE 11Urocanate d'acide aminé basique

On prépare les urocanates d'arginine, d'histidine de la manière suivante :

05 . Urocanate d'arginine

- Introduire dans un réacteur muni d'un dispositif à reflux 720 g de méthanol, 135 g d'eau distillée, et ajouter sous agitation 69 g d'acide urocanique et 87 g d'arginine.

10 - Chauffer lentement le mélange réactionnel, continuer à chauffer jusqu'à reflux ; maintenir l'agitation jusqu'à précipitation complète.

- Refroidir le mélange, puis centrifuger et sécher
(Rendement : environ 90 %).

. Spectre ultraviolet (eau distillée) : maximum 267 nm

15 . pH (eau distillée) : 7,4.

. Urocanate d'histidine décrit antérieurement

- Introduire dans un réacteur muni d'un dispositif à reflux 720 g de méthanol, 135 g d'eau distillée et ajouter sous agitation 69 g d'acide urocanique et 78,57 g d'histidine.

20 - Chauffer lentement le mélange réactionnel, continuer à chauffer jusqu'à reflux ; maintenir l'agitation jusqu'à précipitation complète.

- Refroidir le mélange, puis centrifuger et sécher
(Rendement : environ 90 %)

25 . Spectre ultraviolet (eau distillée) : de 260 à 268 nm.

Suivent une série d'exemples de compositions sous forme de poudre amorphe soluble permettant de réaliser des hydrosolutés dans l'eau distillée à diverses concentrations présentant des pH bio-compatibles compris par exemple entre 6 et 7,5.

30

EXEMPLE 12 d'une composition

| | | |
|----|---|-------|
| | Ribonucléate d'histidine | 31,65 |
| | Chlorhydrate d'histidine | 18,33 |
| 35 | Hydrolysats partiel de collagène lyophilisé | 50,02 |

| | | | |
|----|---------------------------------------|---|---|
| 05 | Spectre ultraviolet (eau distillé) de | 260 à 268 nm, suivant la nature du collagène gène | 3 |
| | pH | 6,0 - 6,8. | 3 |

EXEMPLE 13

| | | |
|----|-------------------------------------|----------------------|
| | Composition | forme poudre amorphe |
| | Ribonucléate d'histidine | 31,65 |
| | Cytidine/uridine | 16,65 |
| 10 | Chlorhydrate d'histidine | 18,33 |
| | Hydrolysate de collagène déshydraté | 33,37 |

EXEMPLE 14

| | | |
|----|-------------------------------------|----------------------|
| | Composition | forme poudre amorphe |
| 15 | Ribonucléate d'histidine | 47,83 |
| | Ribonucléate de sodium | 8,15 |
| | Urocanate d'arginine | 16,66 |
| | Uridine/cytidine | 1,32 |
| | Hydrolysate de collagène déshydraté | 26,04 |

20

EXEMPLE 15

| | | |
|----|-------------------------------------|----------------------|
| | Composition | forme poudre amorphe |
| | Ribonucléate d'arginine | 26,00 |
| | Urocanate d'histidine | 15,63 |
| 25 | Chlorhydrate d'arginine | 1,03 |
| | Chlorhydrate d'histidine | 24,67 |
| | Hydrolysate de collagène déshydraté | 17,02 |
| | Uridine/cytidine | 16,65 |

30

EXEMPLE 16

| | | | |
|----|-------------------------------------|----------------------|---|
| | Composition | forme poudre amorphe | 3 |
| | Ribonucléate d'histidine | 31,65 | |
| | Histidine | 18,33 | 3 |
| | Urocanate d'arginine | 16,65 | |
| 35 | Uridine/cytidine | 16,65 | |
| | Hydrolysate de collagène déshydraté | 16,72. | |

EXEMPLE 17

| | Composition | forme poudre amorphe |
|----|-------------------------------------|----------------------|
| | Ribonucléate d'histidine | 31,65 |
| | Histidine | 18,33 |
| 05 | Urocanate d'arginine | 16,65 |
| | Hydrolysate de collagène lyophilisé | 33,37. |

EXEMPLE 18

| | Composition | forme poudre amorphe |
|----|---------------------------------|----------------------|
| 10 | Ribonucléate d'arginine | 37,50 |
| | Urocanate d'arginine | 35,67 |
| | Urocanate d'histidine | 20,00 |
| | Glutathion | 1,25 |
| | L-tyrosine | 3,00 |
| 15 | L-phénylalanine | 0,50 |
| | L-tryptophane | 0,75 |
| | L-histidine CLH | 1,33 |
| | pH dans eau distillée = 6,5 - 7 | |

EXEMPLE 19

| | Composition | forme poudre amorphe |
|----|--|----------------------|
| | Ribonucléate d'arginine | 37,50 |
| | Urocanate d'arginine | 35,67 |
| | Urocanate d'histidine | 20,00 |
| 25 | Glutathion | 1,25 |
| | L-tyrosine/L-phénylalanine/L-tryptophane | 4,25 |
| | Chlorhydrate d'histidine | 1,33 |

EXEMPLE 20

| | Composition | forme poudre amorphe |
|----|-------------|----------------------|
| 30 | Adénosine | 0,04 |
| | Guanosine | 0,04 |
| | Inosine | 0,04 |
| | Cytidine | 0,04 |
| 35 | Uridine | 0,04 |
| | Glucose | 9,40 |

| | |
|--|-------|
| Urocanate d'arginine | 15,00 |
| Hydrolysate de plasma sanguin lyophilisé | 75,04 |

EXEMPLE 21

| | | |
|----|-------------------------|-------|
| 05 | Ribonucléate de sodium | 20,00 |
| | CMP, d'arginine | 1,70 |
| | GMP, d'histidine | 1,70 |
| | UMP, sel de sodium | 1,00 |
| | Glucose | 2,50 |
| 10 | Hydrolysate de kératine | 73,10 |

Les compositions de base constituent des compositions d'agents cyto-photo-protecteurs de l'invention et peuvent être incorporées en tant que principes actifs à des doses comprises entre 0,01 % et 5 %, exceptionnellement de + 10 % et, de préférence, de 0,10 - 3 % dans des préparations dermatologiques, cosmétologiques et dermo-pharmaceutiques, pour constituer des compositions cosmétiques ou dermo-pharmaceutiques selon l'invention.

Cette incorporation s'effectue de manière extrêmement simple, habituellement par dissolution dans la phase aqueuse de ces préparations, à des températures comprises entre 20°C et 70°C.

On peut utiliser tout type d'excipient habituel de telles compositions cosmétiques ou dermo-pharmaceutiques contenant de l'eau. Il peut s'agir de lotions aqueuses, de gels aqueux, d'émulsions, de pommades, de crèmes, d'onguents, présentation en capsules, gélules.

En outre, ces principes actifs peuvent être incorporés dans des liposomes, micelles et autres formes de micro-encapsulation pour en accélérer ou retarder la pénétration.

On donne ci-après un exemple de préparation d'une composition cosmétique et/ou dermo-pharmaceutique contenant l'une des compositions précitées faisant l'objet de l'invention.

Il est bien entendu que l'on peut faire de même avec les autres compositions.

Par exemple, la composition selon l'exemple 13 est incorporée à la dose de 1 % dans l'émulsion suivante :

| | | |
|----|-----------------------------|-------------|
| | Propylèneglycol stéarate SE | 1,00 |
| | Huile de paraffine | 7,70 |
| 05 | Stéarine | 1,50 |
| | Alcool stéarylique | 0,40 |
| | Glycérine | 4,00 |
| | Carbomer 934 | 0,10 |
| | Triéthanolamine | 0,80 |
| 10 | Conservateur | qs |
| | Eau distillée | qsp 100,00. |

RESULTATS EXPERIMENTAUX

15

Afin d'illustrer et de démontrer les avantages des agents cyto-photo-protecteurs biologiques selon l'invention, on a réalisé sur ceux-ci des travaux expérimentaux, comparativement aux agents photo-protecteurs classiques, visant :

- 20
- d'une part à évaluer leur cyto-toxicité propre,
 - d'autre part leur pouvoir cyto-photo-protecteur en contact avec les cellules.

C'est ainsi que les résultats obtenus pour quelques composés cités dans les exemples des pages précédentes sont regroupés dans les trois tableaux suivants.

25

Il est à noter que, du point de vue de la capacité de photo-protection cutanée de ces composés par rapport aux méthodes de SCHULTZE ou variantes basées sur la MED donc la dose d'irradiation pour l'apparition d'un érythème limité, les forces de protection antisolaire pouvant être obtenues, se situeraient

30

Par contre, du point de vue d'appréciation de la cyto-photo-protection par contact in vitro, les agents cyto-photo-protecteurs, objet des présentes revendications, sont dépourvus de cyto-toxicité aux concentrations utiles et exercent une réelle cyto-photo-protection solaire et essentiellement UV-B, à

35

des taux d'irradiations normalement supportables par chaque utilisateur, par rapport à leur MED.

Il est encore à noter qu'un essai comparatif réalisé avec un sel de sodium de l'acide désoxyribonucléique ne procure pas de cyto-photo-protection significative. Il est donc surprenant et tout à fait non évident pour l'homme de l'art que les dérivés organiques de l'acide ribonucléique selon l'invention ont par contre un effet cyto-photo-protecteur.

- Il est connu d'autre part que les UV-B entraînent une dégradation morphologique et fonctionnelle des cellules de Langerhans, et il est connu que les filtres solaires courants, type cinnamate, PABA n'empêchent pas cette dégradation.

- de même, il est connu que les UV-B entraînent une chute de l'activité ATP-ase des cellules de Langerhans, et que cette dégradation ne peut être empêchée par les filtres solaires précités.

- Ces mêmes filtres sont sans action pour assurer la protection des cellules de Langerhans contre la dégradation et négativation de la réponse au test immunologique au DNFB par les UV-B.

PROTOCOLE type I

DL₅₀ sur fibroblastes MRC5, in vitro

. Les cellules Fibroblastes MRC5 sontensemencées sur milieu EMEM, complémenté en sérum de veau foetal (5 %).

. 24 h plus tard, le milieu est remplacé par une solution saline (PBS) du produit à tester (dans le cas des filtres PMCEH et PABEH, on prépare une solution mère).

. Un nombre suffisant de boîtes est préparé, par introduction de dilutions croissantes de la substance à tester (de 0,01 % à 0,03 %), de façon à réaliser une gamme d'explorations.

. Toutes les boîtes sont alors incubées à 37°C, durant 2 h.

- . La solution saline est ensuite remplacée par le milieu de croissance habituel (EMEM + 5 % SVF).
 - . 72 h plus tard, les cultures cellulaires sont colorées.
- 05
- . Le nombre de cellules vivantes est évalué par mesure de l'intensité de coloration de chaque boîte à l'Analyseur Electronique d'Images.
- 10
- . La DL_{50} correspond à la dose juste suffisante de produit testé, inhibant le taux de croissance cellulaire de 50 %, par rapport au témoin.

PROTOCOLE type II

15

Toxicité sur fibroblastes MRC5

- . Les cellules MRC5 sont ensemencées sur milieu de culture classique.
- 20
- . 24 h plus tard, mises en contact avec le produit à tester, préalablement mis en solution dans du PBS.
- . Puis la solution est remplacée par le milieu de croissance =
- 25
- EMEM + 5 % SVF.
- . 3 jours plus tard, le taux de croissance est évalué :
 - par mesure de la coloration à l'Analyseur Electronique d'Images
 - ou
- 30
- par mesure du taux d'ATP intracellulaire.

PROTOCOLE type III

DL₅₀ sur kératinocytes épidermiques, in vitro

- 05 . Les kératinocytes épidermiques isolés sont mis en culture sur boîtes (culture de 1ère explantation) dans le milieu DMEM à 10 % de SVF.
- 10 . 24 h plus tard, le milieu de culture précédent est remplacé par une solution saline enrichie en acides aminés (= DMEM) du produit à tester.
- 15 . Un nombre suffisant de boîtes est préparé, de façon à réaliser une gamme de dilutions croissantes de la substance à tester.
- 20 . Toutes les boîtes sont incubées à 37°C pendant 3 jours.
- 25 . Puis, l'adénosine triphosphate* intracellulaire est extrait et dosé dans chaque boîte, par technique de bioluminescence.
- 20 . La toxicité de chaque substance étudiée est estimée en pourcentage, par rapport au milieu témoin (DMEM).
- 25 . La dose létale (DL₅₀) est déterminée graphiquement, comme étant la dose minimum de produit qui diminue le taux d'ATP de 50 % par rapport au témoin.

ETUDE de la CYTOTOXICITE DL 50

| REFERENCE | Ex- n | Fibroblastes MRC 5 en culture (in vitro) | | Kératinocytes épidermiques en culture (in vitro) | |
|---|----------|---|-------------------|---|-------------------|
| | | DL ₅₀ en g % | Protocole Type | DL ₅₀ en g % | Protocole Type |
| 4-méthoxycinnamate d'éthyle-2- hexyle (PMCEH) | | 0,015 | I | 0,038 | III |
| 4-diméthylaminobenzoate d'éthyle- 2-hexyle (PABEH) | | < 0,01 | I | 0,014 | III |
| Ribonucléate de potassium | 1 | > 1 | II | > 2 | III |
| Ribonucléate d'arginine | 3 A | > 2 | II | > 2 | III |
| Ribonucléate d'histidine | 3 B | > 2 | II | > 2 | III |
| ATP, Na | 4 E | > 0,5 | II | 0,2 | III |
| Cytidine monophosphate d'histi- dine | 7 B | 1 | II | 0,76 | III |
| Inosine | 8 C | > 2 | II | > 2 | III |
| Composition, Ex. 13 | 13 | > 3 | II | > 2 | III |
| Composition, Ex. 18 | 18 | 1,2 | II | 1,25 | III |

ETUDE DE CYTOTOXICITE SUR CELLULES de LANGERHANS (L.C.)

| REFERENCE | Ex- n | Concentration % | Cytotoxicité en pourcentage de L.C. détruites | Protocole type | <p>La cytotoxicité sur L.C. est évaluée sous forme de pourcentage de nombre de cellules négatives par rapport au nombre initial de L.C. HLADR + en présence de la substance à tester.</p> <p>Ce test est effectué sur une suspension de L.C. provenant d'une biopsie épidermique immédiatement traitée, compte tenu des difficultés pour cultiver les L.C.</p> <p>CALCUL de la CYTOTOXICITE (voir Protocole V)</p> $\frac{N-\text{lot 1} - N-\text{lot 3}}{N-\text{lot 1}} \times 100$ |
|---|----------|--------------------|---|-------------------|--|
| 4-méthoxycinnamate d'éthyle-2-hexyle (PMCEH) | | 0,03 | 79 - 80 % | V | |
| 4-diméthylaminobenzoate d'éthyle-2-hexyle (PABEH) | | 0,01 | 35 % | V | |
| Ribonucléate de potassium | 1 | 1 | 17 % | V | |
| Ribonucléate d'arginine | 3 A | 1 | 32 % | V | |
| Ribonucléate d'histidine | 3 B | 5 | 7 % | V | |
| ATP, Na | 4 E | 0,2 | 10 % | V | |
| Cytidine monophosphate d'histidine | 7 B | 0,5 | 34 % | V | |
| Inosine | 8 C | 1 | 33 % | V | |
| Composition, Ex. 13 | 13 | 3 | 32 % | V | |
| Composition, Ex. 18 | 18 | 0,5 | 6 % | V | |

PROTOCOLE IV

Evaluation du pouvoir cyto-photo-protecteur de substances
en contact avec fibroblastes MRC5

05

- . Le but de cette étude est d'évaluer les capacités cyto-photo-protectrices de diverses substances sur la croissance de fibroblastes MRC5, en culture in vitro, lorsqu'elles sont irradiées par une source d'UVB.

10

- . Les cellules sontensemencées à un faible taux.

15

- . 24 h après, les cellules MRC5 sont recouvertes par une solution de la substance à étudier dans le PBS, puis irradiées par une dose définie (en mJ/cm^2) d'UVB.

- . Puis la solution saline est remplacée par le milieu de croissance EMEM + 5 % SVF.

20

- . 72 h après, les cultures cellulaires sont colorées, et le taux de croissance est évalué par Analyse Electronique d'Images.

PROTOCOLE type V

25

Etude du pouvoir cyto-photo-protecteur de substances
en contact avec des cellules de Langerhans

Dénombrement microscopique des cellules de Langerhans HLA-DR+

30

- . A partir de biopsie de la peau, on prépare une suspension de cellules épidermiques.
- . Cette suspension cellulaire est divisée en 2 :

- 1/ une partie sert de témoin, additionnée seulement du tampon PBS
- a) 1er lot non irradié
- b) 2ème lot irradié par UVB ($x \text{ mJ/cm}^2$)
- 05 2/ L'autre partie reçoit la substance à étudier en solution dans le tampon PBS :
- a) 3ème lot non irradié
- b) 4ème lot irradié par UVB ($x \text{ mJ/cm}^2$)
- 10 . Les 4 lots précités de cellules épidermiques contenant les cellules de Langerhans sont ensuite marqués par immunocytochimie (marquage des sites antigéniques HLA-DR spécifiques des cellules de Langerhans).
- 15 . Pour chacun des 4 lots, les cellules HLA-DR sont ensuite dénombrées par comptage microscopique.
- . Résultats :
- 20 - le 1er lot : Correspond au nombre initial de L.C. intactes (témoin) HLA-DR+ par unité de volume.
- le 2ème lot : L'irradiation à une dose déterminée d'UVB entraîne une réduction du nombre initial de
- 25 L.C.-HLA-DR+ par unité de volume
- Le nombre restant de L.C.-HLADR+ = N-lot 2.
- le 3ème lot : la substance présumée photo-protectrice pour les
- 30 L.C. peut exercer éventuellement une cyto-toxicité spécifique à une concentration donnée.
- La valeur retenue est celle du nombre restant de L.C.-HLADR+ par unité de volume en contact avec la substance à la concentration étudiée.
- 35 Le nombre correspondant L.C.-HLADR+ = N-Lot 3.

- le 4ème lot : permet de déterminer le nombre d L.C.-HLADR+ en contact avec la substance à tester à concentration identique au 3ème lot et après irradiation UVB à la même dose que 2ème lot.

05

Le nombre de L.C.-HLADR+ restants par unité de volume = N-Lot 4.

ETUDE de la CYTOPHOTOPROTECTION EN CONTACT

| REFERENCE | Ex. n° | Cellules de Langerhans en suspension SITES HLA-DR + (in vitro) | | | Fibroblastes MRC 5 en culture (in vitro) | | |
|---|-----------|---|------------------------------------|-------------------|---|------------------------------------|-------------------|
| | | Concentration | Pouvoir cytophoto- protecteur * | Protocole type | Concentration | Pouvoir cytophoto- protecteur * | Protocole type |
| 4-méthoxycinnamate d'éthyle-2- hexyle (PMCEH) | | 0,03 % | 0 | V | 0,03 % | 1,8 % NS | IV |
| 4-diméthylaminobenzoate d'éthyle- 2-hexyle (PABEH) | | 0,01 % 0,03 % | + 8 % 0 | V | 0,02 % | 0 | IV |
| Ribonucléate de potassium | 1 | 1 % | + 100 % | V | 1 % | 100 % | IV |
| Ribonucléate d'arginine | 3 A | 1 % | + 65 % | V | 0,3 % | 58 % | IV |
| Ribonucléate d'histidine | 3 B | 5 % | + 100 % | V | 0,5 % | 96 % | IV |
| ATP, Na | 4 E | 0,2 % 1 % | + 47 % + 100 % | V V | 0,50 % | 46 % | IV |
| Cytidine monophosphate d'histi- dine | 7 B | 0,5 % | + 24 % | V | 0,12 % | 77 % | IV |
| Inosine | 8 C | 1 % | + 100 % | V | 1 % | 74 % | IV |
| Composition, Ex. 13 | 13 | 3 % | + 53 % | V | 2,70 % | 99 % | IV |
| Composition, Ex. 18 | 18 | 0,5 % | + 81 % | V | 0,50 % | 100 % | IV |

* : Pouvoir cytophotoprotecteur maximum = 100 %

NS : non significatif

REVENDEICATIONS

- 05 1. Agent cyto-photo-protecteurcutané, d'origine biologique ou biotechnologique, notamment ayant une activité photo-protectrice spécifique des cellules fonctionnelles de la peau, en particulier des cellules de Langerhans, de préférence ne contenant pas de filtre solaire cyto-toxique synthétique, en particulier du type cinnamate ou PABA ou leurs dérivés, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un composé choisi
- 10 parmi le groupe des composés et dérivés nucléiques comprenant :
- A - les acides ribonucléiques, ainsi que leurs dérivés, en particulier leurs sels, avec des bases minérales ou organiques, de préférence des sels complexes de protéides basiques, des aminoacides basiques ou des peptides basiques,
- 15 B - les ribonucléotides ainsi que leurs dérivés type sels, avec des bases minérales ou de préférence organiques incluant des sels complexes avec des protéides basiques, des aminoacides basiques ou des peptides basiques ; et
- C - des ribonucléosides.
- 20 2. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 1, caractérisé en ce que les acides ribonucléiques sont sous forme de sels avec des bases minérales, avantageusement choisies parmi NaOH, KOH, NH_4OH , ou des bases organiques, en particulier les éthanolamines.
- 25 3. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 1, caractérisé en ce que les acides ribonucléiques sont sous forme de leurs sels ou complexes avec des protéides basiques, tels que :
- les histones ou microprotéines de poids moléculaire compris entre 11 000 et 24 000 environ,
- 30 - les globines dont les poids moléculaires sont compris entre environ 15 000 et environ 70 000.
4. Agent cyto-photo-protecteurselon la revendication 1, caractérisé en ce que les acides ribonucléiques sont sous forme de leurs sels complexes avec des aminoacides basiques, de préférence
- 35 choisis parmi la L-histidine, la L-arginine, la L-lysine, la L-ornithine, la L-hydroxylysine.

5. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 1, caractérisé en ce que les acides ribonucléiques sont sous forme de leurs sels avec des peptides basiques.

05 6. Agent cyto-photo-protecteur selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que les ribonucléotides précités sont choisis parmi le groupe des monoribonucléotides courants.

7. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 6, caractérisé en ce que les ribonucléotides préférés sont les suivants :

10

RIBONUCLEOTIDES

| | | |
|-----|-----|-----|
| AMP | ADP | ATP |
|-----|-----|-----|

| | | |
|-----|-----|-----|
| GMP | GDP | GTP |
|-----|-----|-----|

15

| | | |
|-----|-----|-----|
| CMP | CDP | CTP |
|-----|-----|-----|

| | | |
|-----|-----|-----|
| UMP | UDP | UTP |
|-----|-----|-----|

20

| | | |
|-----|-----|-----|
| IMP | IDP | ITP |
|-----|-----|-----|

| | | |
|-----|-----|-----|
| XMP | XDP | XTP |
|-----|-----|-----|

25 8. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 6 ou 7, caractérisé en ce que les ribonucléotides précités sont sous forme de leurs sels avec des bases, ce qui permet d'obtenir des pH de l'ordre de 5,8 à 8 qui sont biocompatibles.

9. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 8, caractérisé en ce que les ribonucléotides précités sont sous forme de leurs sels avec des bases minérales, de préférence choisies parmi NaOH, KOH, NH₄OH, ou avec des bases organiques, en particulier la triéthanolamine.

30 10. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 8, caractérisé en ce que les ribonucléotides précités sont sous forme de leurs sels avec des protéides basiques, tels que :

- les histones ou microprotéines de poids moléculaire compris entre 11 000 et 24 000 environ,
- les globines ou copules protéiques des hémoglobines et des myoglobines dont les poids moléculaires sont compris entre environ 15 000 et environ 70 000.

11. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 8, caractérisé en ce que les ribonucléotides précités sont sous forme de leurs sels avec les aminoacides basiques, en particulier un ou plusieurs aminoacides basiques choisis parmi le groupe consistant de la L-histidine, la L-arginine, la L-lysine, la L-ornithine, la L-hydroxylysine.

12. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 8, caractérisé en ce que les ribonucléotides précités sont sous forme de leurs sels avec des peptides basiques.

13. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 8, caractérisé en ce que les ribonucléosides précités sont choisis parmi le groupe consistant des monoribonucléosides courants.

14. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 13, caractérisé en ce que les ribonucléosides sont choisis parmi :

RIBONUCLEOSIDES

- . Adénosine
- . Cytidine
- . Guanosine
- . Inosine
- . Uridine
- . Xanthosine

15. Agent cyto-photo-protecteur selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que les nucléosides sont associés ou combinés à un ou plusieurs des nucléoprotides ou ribonucléotides précités ainsi que leurs sels, en des proportions calculées pour l'obtention de pH biocompatibles compris entre 5,8 et 8.

16. Agent cyto-photo-protecteur selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, caractérisé en ce qu'il comprend des dérivés d'acide urocanique ou urocanoprotides sous forme de sels simples ou complexes de l'acide urocanique ou des dérivés d'acide urocanique avec certains protéides, peptides, acides aminés.

17. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 16, caractérisé en ce que les dérivés d'acide urocanique ou urocanoprotides sous forme de sels complexes sont obtenus de préférence par une combinaison de l'acide urocanique avec :

a) des protéides basiques, avantageusement des histones ou des globines, en particulier, telles que précédemment définies ;

b) des ribonucléotides tels que AMP, ADP, ATP photo-absorbants ;

c) des peptides basiques,

d) des aminoacides basiques, de préférence L-histidine, L-arginine, L-lysine, L-hydroxylysine, L-ornithine pris seuls ou en combinaisons.

18. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 16 ou 17, caractérisé en ce que les dérivés urocaniques sont des complexes urocanoprotidiques choisis parmi les urocanohistones, urocanopectides, urocanoaminoacides basiques et urocanonucléotidiques plus cytophiles que les dérivés ou sels minéraux alcalins ou alcalino-terreux.

19. Agent cyto-photo-protecteur selon l'une quelconque des revendications 1 à 18, caractérisé en ce qu'il comprend en outre des aminoacides et des peptides ou protéines.

20. Agent cyto-photo-protecteur selon la revendication 19, caractérisé en ce que les aminoacides et les peptides et protéines précités sont choisis parmi :

1) un ou plusieurs des vingt aminoacides courants habituels des protéines, dont la liste suit :

. Aminoacides engagés dans les complexes, combinaisons précitées L-histidine, L-arginine, L-lysine, L-citrulline, L-ornithine, L-hydroxylysine,

. Aminoacides aromatiques L-tyrosine, L-phénylalanine, L-tryptophane,

- . Aminoacides dicarboxyliques : acide L-glutamique, acide L-aspartique,
- . Acides aminés cycliques : L-proline* (L-hydroxyproline),
- . Acides aminés monocarboxyliques : glycine, alanine, L-valine*,
05 L-leucine*, L-isoleucine,
- . Acides aminés "alcool" : L-sérine*, L-thréonine*,
- . Acides aminés "amidés" : L-glutamine*, L-asparagine,
- . Acides aminés soufrés et oligo-peptides soufrés : L-cystéine*, L-méthionine*, cystine*,
10 *Aminoacides épidermiques abondants dans la kératine et ayant un pouvoir photo-protecteur ;

2) un ou plusieurs des peptides et protéines habituels des cellules et/ou peptides résultant de l'hydrolyse acide, basique ou enzymatique, de polypeptides tels que le glutathion et/ou
15 protéines, scléroprotéines et protéines solubles telles que :

- . scléroprotéines et leurs hydrolysats partiels :
 - fibroïne de la soie concentrations de 1 à 10 %
 - collagène concentrations de 1 à 10 %
 - élastine concentrations de 1 à 10 %
 - 20 - kératines hydrophiles
- . protéines solubles et leurs hydrolysats partiels :
(en concentration de 0,1 à 10 %)
 - histones
 - globines (hémoglobines et myoglobines)
 - 25 - protéines plasmatiques (par exemple sérum-albumine, sérum-globulines)
 - protéines plasmatiques partiellement hydrolysées (voie enzymatique), soit de plasma sanguin riche en protéines (environ 8 %) et utilisable comme solvant biologique synergique de
30 photo-protection et véhicule transporteur biologique.

21. Composition cosmétique ou dermo-pharmaceutique à activité cyto-photo-protectrice de la peau, notamment à activité photo-protectrice cellulaire et anti-vieillesse précoce cutané en particulier protectrice des cellules de Langerhans, caractérisée
35 en ce qu'elle comprend au moins un agent cyto-photo-protecteur tel

que précédemment défini à l'une quelconque des revendications 1 à 20.

22. Composition cosmétique ou dermo-pharmaceutique selon la revendication 21, caractérisée en ce que la concentration en agents cyto-protecteurs précitée est similaire à la concentration en agents photo-protecteurs antérieurement connus utilisés pour la photo-protection de la peau, et est avantageusement comprise entre 0,01 % et 10 %, de préférence 0,1 et 3 %, en poids par rapport au poids total de la composition cosmétique ou dermo-pharmaceutique.

23. Nouveaux composés, caractérisés en ce qu'il s'agit des composés choisis parmi le groupe consistant de :

A - les sels simples ou complexes des acides ribonucléiques précédemment énoncés avec des bases organiques, choisies parmi les groupes consistants des protéides basiques tels qu'histone, globine, des peptides basiques ou des peptides tels que glutathion ;

B - les sels simples ou complexes des ribonucléotides précédemment décrits, avec des bases organiques choisies parmi les groupes consistants des protéides basiques et des peptides basiques précités.

24. Nouveaux composés selon la revendication 23, caractérisés en ce que les ribonucléotides sont choisis parmi :

| | | | |
|----|-----------------|-----|-----|
| 25 | RIBONUCLEOTIDES | | |
| | AMP | ADP | ATP |
| 30 | GMP | GDP | GTP |
| | CMP | CDP | CTP |
| 35 | UMP | UDP | UTP |
| | IMP | IDP | ITP |
| | XMP | XDP | XTP |

25. Procédé de préparation d'un agent cyto-photo-protecteur cutané de la peau, notamment ayant une activité photo-protectrice cellulaire, spécifique, en particulier des cellules de Langerhans, caractérisé en ce qu'on utilise, à titre
05 d'ingrédient actif, cyto-photo-protecteur, au moins un composé tel que défini à l'une quelconque des revendications 1 à 20.

26. Procédé selon la revendication 25, caractérisé en ce qu'on prépare les sels des acides ribonucléiques avec des bases minérales ou organiques, ou mieux les sels complexes des acides
10 ribonucléiques avec des protéides basiques, des aminoacides basiques ou des peptides basiques tels que précédemment définis.

27. Procédé de préparation d'une composition cosmétique et/ou dermo-pharmaceutique cyto-protectrice de la peau, notamment à activité photo-protectrice cellulaire, en particulier protectrice
15 des cellules de Langerhans, caractérisé en ce qu'on incorpore au moins un agent cyto-photo-protecteur de la peau, tel que précédemment défini à l'une quelconque des revendications 1 à 20, dans un excipient, véhicule ou support, cosmétiquement et/ou pharmaceutiquement compatible.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/FR 89/ 00377

| | | |
|--|---|-------------------------------------|
| I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) * | | |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC | | |
| Int.Cl. ⁵ A 61 K 7/42, A 61 K 7/48, A 61 K 37/10, C 07 H 19/10, C 07 H 19/20, C 07 H 21/00 | | |
| II. FIELDS SEARCHED | | |
| Minimum Documentation Searched ⁷ | | |
| Classification System | Classification Symbols | |
| Int.Cl. ⁵ | A 61 K, C 07 H | |
| Documentation Searched other than Minimum Documentation to the extent that such Documents are Included in the Fields Searched * | | |
| III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹ | | |
| Category * | Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹² | Relevant to Claim No. ¹³ |
| X | Analytical Sciences, volume 4, April 1988, Y. Sugitani et al.: "Red shift in photoacoustic ultraviolet absorption spectra of solid purine bases, nucleosides and nucleotides", pages 215-217: see the whole article | 1,6-7,13-14, 21,25-26 |
| X | DE, A, 2156555 (KOLMAR RESEARCH CENTER) 24 May 1973 see the whole document | 1,6-9,13-14, 21-22,25-27 |
| X | BE, A, 793306 (PAPIERWERKE WALDHOFASCHAFFENBURG) 16 April 1973, see the whole document | 1,6-9,13-15, 21-22,25-27 |
| Y | | 1,6-9,13-22, 25-27 |
| Y | EP, A, 0010483 (LABO. SEROBIOLOGIQUES) 30 April 1980 see the whole document, cited in the application | 1,6-9,13-22, 25-27 |
| X | GB, A, 2198042 (INDUCHEM) 8 June 1988, see the whole document | 1,6-9,21-22, 25-27 |
| Y | | 1,6-9,11,21-22,25-27 |
| | -- ./. -- | |
| <p>* Special categories of cited documents: ¹⁰</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> | | |
| IV. CERTIFICATION | | |
| Date of the Actual Completion of the International Search | Date of Mailing of this International Search Report | |
| 21 September 1989 (21.09.89) | 19 October 1989 (19.10.89) | |
| International Searching Authority | Signature of Authorized Officer | |
| EUROPEAN PATENT OFFICE | | |

| III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET) | | |
|--|--|--------------------------|
| Category * | Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to Claim No |
| Y | FR, A, 1440795 (LABO. DU DOCTEUR JACQUES AUCLAIR) 1966, see the whole document, cited in the application -- | 1,6-9,11,21- 22,25-27 |
| Y | FR, M, 3932 (CHUGAI SEIYAKU K.K.) 14 February 1966 see the whole document, cited in the application -- | 1,6-9,11,21- 22,25-27 |
| X,P | FR, A, 2620024 (SOCIETE D'ETUDES DERMATOLOGIQUES) 10 March 1989, see the whole document -- | 1,13-14,21- 22,25-27 |
| X,P | WO, A, 88/06034 (FIASCHETTI) 25 August 1988, see the whole document -- | 1,19-22,25,27 |
| X | GB, A, 1412591 (BEECHAM GROUP) 5 November 1975 see page 2, line 61 - page 3, line 10; claims -- | 23 |
| Y | US, A, 4415553 (ZHABILOV et al.) 15 November 1983 see the whole document -- | 23-24 |
| Y | FR, A, 2181220 (TIXIER) 30 November 1973, see the whole document, cited in the application -- | 23-24 |
| Y | FR, M, 5032 (SOCIETE DE RECHERCHE DE BIOLOGIE THERAPEUTIQUE) 5 June 1967 see the whole document, cited in the application ----- | 23-24 |

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

FR 8900377
SA 30341

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 13/10/89
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| DE-A- 2156555 | 24-05-73 | None | |
| BE-A- 793306 | 16-04-73 | DE-A- 2164052 | 26-07-73 |
| | | FR-A- 2164938 | 03-08-73 |
| | | GB-A- 1422642 | 28-01-76 |
| EP-A- 0010483 | 30-04-80 | FR-A, B 2439013 | 16-05-80 |
| | | AT-T- E4858 | 15-10-83 |
| | | EP-A, B 0070048 | 19-01-83 |
| | | US-A- 4419343 | 06-12-83 |
| GB-A- 2198042 | 08-06-88 | AU-A- 8181087 | 09-06-88 |
| | | DE-A- 3732154 | 30-06-88 |
| | | FR-A- 2607699 | 10-06-88 |
| | | US-A- 4844884 | 04-07-89 |
| FR-A- 1440795 | | None | |
| FR-M- 3932 | | FR-A- 1453256 | |
| | | GB-A- 1083911 | |
| | | US-A- 3340249 | |
| FR-A- 2620024 | 10-03-89 | None | |
| WO-A- 8806034 | 25-08-88 | None | |
| GB-A- 1412591 | 05-11-75 | None | |
| US-A- 4415553 | 15-11-83 | None | |
| FR-A- 2181220 | 30-11-73 | None | |
| FR-M- 5032 | 05-06-67 | None | |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale N° PCT/FR 89/00377

| | | |
|--|---|--|
| I. CLASSEMENT DE L'INVENTION (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) ⁷ | | |
| Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB CIB ⁵ : A 61 K 7/42, A 61 K 7/48, A 61 K 37/10, C 07 H 19/10, C 07 H 19/20, C 07 H 21/00 | | |
| II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTÉ | | |
| Documentation minimale consultée ⁸ | | |
| Système de classification | Symboles de classification | |
| CIB5 | A 61 K, C 07 H | |
| Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté ⁹ | | |
| | | |
| III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS ¹⁰ | | |
| Catégorie ⁶ | Identification des documents cités, ¹¹ avec indication, si nécessaire, des passages pertinents ¹² | N° des revendications visées ¹³ |
| X | Analytical Sciences, vol. 4, avril 1988, Y. Sugitani et al.: "Red shift in photoacoustic ultraviolet absorption spectra of solid purine bases, nucleosides and nucleotides", pages 215-217 voir l'article en entier -- | 1,6-7,13- 14,21,25- 26 |
| X | DE, A, 2156555 (KOLMAR RESEARCH CENTER) 24 mai 1973 voir le document en entier -- | 1,6-9,13- 14,21-22, 25-27 |
| X | BE, A, 793306 (PAPIERWERKE WALDHOF- ASCHAFFENBURG) 16 avril 1973 voir le document en entier -- | 1,6-9,13- 15,21-22, 25-27 |
| Y | -- ./. | 1,6-9,13- 22,25-27 |
| <p>⁶ Catégories spéciales de documents cités: ¹¹</p> <p>« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>« E » document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>« L » document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>« O » document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>« P » document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> <p>« T » document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>« X » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive</p> <p>« Y » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.</p> <p>« & » document qui fait partie de la même famille de brevets</p> | | |
| IV. CERTIFICATION | | |
| Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée | Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale | |
| 21 septembre 1989 | 9. 10. 89 | |
| Administration chargée de la recherche internationale | Signature du fonctionnaire autorisé | |
| OFFICE EUROPEEN DES BREVETS | T.K. WILLIS | |

Demande internationale N° PCT/FR 89/00377

| III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS (SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUÉS SUR LA DEUXIÈME FEUILLE) | | |
|--|---|------------------------------|
| Catégorie* | Identification des documents cités, avec indication, si nécessaire, des passages pertinents | N° des revendications visées |
| Y | EP, A, 0010483 (LABO. SEROBIOLOGIQUES) 30 avril 1980 voir le document en entier cité dans la demande -- | 1,6-9,13- 22,25-27 |
| X | GB, A, 2198042 (INDUCHEM) 8 juin 1988 voir le document en entier | 1,6-9,21- 22,25-27 |
| Y | -- | 1,6-9,11, 21-22,25- 27 |
| Y | FR, A, 1440795 (LABO. DU DOCTEUR JACQUES AUCLAIR) 1966 voir le document en entier cite dans la demande -- | 1,6-9,11, 21-22,25- 27 |
| Y | FR, M, 3932 (CHUGAI SEIYAKU K.K.) 14 février 1966 voir le document en entier cité dans la demande -- | 1,6-9,11, 21-22,25- 27 |
| X,P | FR, A, 2620024 (SOCIETE D'ETUDES DERMATOLOGIQUES) 10 mars 1989 voir le document en entier -- | 1,13-14, 21-22,25- 27 |
| X,P | WO, A, 88/06034 (FIASCHETTI) 25 août 1988 voir le document en entier -- | 1,19-22, 25,27 |
| X | GB, A, 1412591 (BEECHAM GROUP) 5 novembre 1975 voir page 2, ligne 61 - page 3, ligne 10; revendications -- | 23 |
| Y | US, A, 4415553 (ZHABILOV et al.) 15 novembre 1983 voir le document en entier -- | 23-24 |
| Y | FR, A, 2181220 (TIXIER) 30 novembre 1973 voir le document en entier cité dans la demande -- | 23-24 |
| Y | FR, M, 5032 (SOCIETE DE RECHERCHE DE BIOLOGIE THERAPEUTIQUE) 5 juin 1967 voir le document en entier cité dans la demande ----- | 23-24 |

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE
RELATIF A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO.**

FR 8900377
SA 30341

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 13/10/89
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|------------------------|---|------------------------|
| DE-A- 2156555 | 24-05-73 | Aucun | |
| BE-A- 793306 | 16-04-73 | DE-A- 2164052 | 26-07-73 |
| | | FR-A- 2164938 | 03-08-73 |
| | | GB-A- 1422642 | 28-01-76 |
| EP-A- 0010483 | 30-04-80 | FR-A, B 2439013 | 16-05-80 |
| | | AT-T- E4858 | 15-10-83 |
| | | EP-A, B 0070048 | 19-01-83 |
| | | US-A- 4419343 | 06-12-83 |
| GB-A- 2198042 | 08-06-88 | AU-A- 8181087 | 09-06-88 |
| | | DE-A- 3732154 | 30-06-88 |
| | | FR-A- 2607699 | 10-06-88 |
| | | US-A- 4844884 | 04-07-89 |
| FR-A- 1440795 | | Aucun | |
| FR-M- 3932 | | FR-A- 1453256 | |
| | | GB-A- 1083911 | |
| | | US-A- 3340249 | |
| FR-A- 2620024 | 10-03-89 | Aucun | |
| WO-A- 8806034 | 25-08-88 | Aucun | |
| GB-A- 1412591 | 05-11-75 | Aucun | |
| US-A- 4415553 | 15-11-83 | Aucun | |
| FR-A- 2181220 | 30-11-73 | Aucun | |
| FR-M- 5032 | 05-06-67 | Aucun | |